河北转 Bt 基因棉田棉铃虫对杀虫剂的抗性及相关酶活性的变化

张少华[1]，李　哲[1]，马　卓[1]，王春一[2]，李春英[1]，王秀吉[1]，何运转[1,*]
（1. 河北农业大学植物保护学院，河北保定 071000；2. 河北省南皮县农业局，河北南皮 061500）

摘要：为明确河北省推广种植植转 Bt 基因抗虫棉(简称 Bt 棉)后，棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)对常用杀虫剂的抗药性水平及其生化机理，2011 -2012 年采用点滴法对保定南郊、沧州南皮、邢台巨鹿 3 个地区的田间种群以及敏感种群进行了室内毒力测定，并采用生化分析法对 4 个种群相关的羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)、谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的活性进行了研究。结果表明：3 个田间种群对高效氯氰菊酯和氰戊菊酯处于中至高抗水平，抗性倍数为 20.02 ~73.70 倍；对灭多威处于低至中抗水平，抗性倍数为 6.27 ~11.84 倍；对高效氯氟氰菊酯(抗性倍数：1.07 ~4.20 倍)，辛硫磷、毒死蜱和马拉硫磷(抗性倍数：1.00 ~2.69 倍)，以及氯虫苯甲酰胺(抗性倍数：2.00 ~3.67 倍)均处于敏感水平。3 个田间种群的 CarE, GSTs 和 AChE 活性分别是敏感种群的 1.06 ~1.23, 1.20 ~1.63 和 1.15 ~1.23 倍，这可能与其对高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和灭多威产生的抗性有关。

关键词：棉铃虫；转 Bt 基因棉；抗药性；杀虫剂；抗性倍数；酶活性
中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)06-0638-06

Characteristics of resistance to insecticides and change of activities of the related enzymes in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic Bt cotton fields in Hebei Province, North China

ZHANG Shao-Hua[1], LI Zhe[1], MA Zhuo[1], WANG Chun-Yi[2], LI Chun-Ying[1], WANG Xiu-Ji[1], HE Yun-Zhuan[1,*] (1. College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; 2. Agricultural Bureau of Nanpi County, Nanpi, Hebei 061500, China)

Abstract: To investigate the resistance level of *Helicoverpa armigera* (Hübner) from transgenic Bt cotton field to insecticides and ascertain their biochemical mechanisms, three field populations were collected in 2011 and 2012 from southern suburbs of Baoding, Nanpi County of Cangzhou and Julu County of Xingtai in Hebei Province, North China. The toxicity of eight insecticides was tested by topical application method, and the activities of the related carboxylesterase (CarE), glutathione S-transferases (GSTs) and acetylcholinesterase (AChE) were determined by biochemical analysis. The results showed that the three field populations had medium- or high-level resistance to beta-cypermethrin and fenvalerate (the R/S ratio: 20.02 -73.70), low- or medium-level resistance to methomyl (the R/S ratio: 6.27 -11.84), but were sensitive to lambda-cyhalothrin (the R/S ratio: 1.07 -4.20), phoxim, chlorpyrifos and malathion (the R/S ratio: 1.00 -2.69), and chlorantraniliprole (the R/S ratio: 2.00 -3.67). The activities of CarE, GSTs and AChE in the three field populations were 1.06 -1.23, 1.20 -1.63 and 1.15 -1.23-fold as high as that in the susceptible population, respectively, and this may be correlated with the resistance to beta-cypermethrin, fenvalerate and methomyl.

Key words: *Helicoverpa armigera*; transgenic Bt cotton; insecticide resistance; insecticide; resistance ratio; enzyme activity

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)属鳞翅目，夜蛾科，是棉花的主要害虫之一，主要蛀食蕾、花、铃。20 世纪 90 年代以来，棉铃虫在我国连年大发生，造成了严重的经济损失，其中，1992 年棉

基金项目：国家自然科学基金项目(31272095)
作者简介：张少华，女，1986 年 11 月生，河北藁城人，硕士研究生，研究方向为昆虫毒理学，E-mail：zsh7451921@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：heyz63@sina.com
收稿日期 Received：2013-01-15；接受日期 Accepted：2013-04-03

铃虫在我国河北、山东和河南等 9 省的棉田大暴发，所造成的直接经济损失达 50 亿元以上（杨宝新，2004），致使棉花种植业受到严重威胁。为了控制棉铃虫带来的严重危害，我国于 1998 年首先在河北省大面积推广种植转 Bt 基因抗虫棉（简称 Bt 棉），当年河北省种植 Bt 棉面积占全省总播种面积的 54.9%，1999 年达到 90%（刘素娟，2003），2003 年达到 99%。随着 Bt 棉相继在我国大面积推广种植，化学农药用量大幅度下降，显著延缓了棉铃虫抗药性的发展。据有关报道，河南省、山东省和湖北省在种植 Bt 棉后，棉铃虫对氰戊菊酯、灭多威和辛硫磷的抗性均呈下降趋势（张平磊等，2004；郭庆龙，2007），同样在河北省种植 Bt 棉后，棉铃虫对不同杀虫剂的抗性呈不同程度的下降（秦秋菊，2002）。

研究表明，代谢酶活力的增加和靶标部位的敏感性降低，是棉铃虫对杀虫剂产生抗性的重要机制。张文吉等（1996）研究发现河北田间抗性棉铃虫种群的羧酸酯酶（carboxylesterase，CarE）、谷胱甘肽 S-转移酶（glutathione S-transferases，GSTs）和乙酰胆碱酯酶（acetylcholinesterase，AChE）活性的增强是其对氰戊菊酯和灭多威产生抗性的重要机制。张友军等（1997）测定棉铃虫对氰戊菊酯的抗性与体内 CarE 和 GSTs 活力的提高有关；对灭多威的抗性与体内 AChE 活力的提高有关。王守玉等（2000）报道棉铃虫对溴氰菊酯的抗性与体内 CarE 活力的提高密切相关。郭庆龙（2007）研究发现，Bt 棉田中的棉铃虫种群对常用杀虫剂的抗性与体内 CarE 和 GSTs 活性的提高有一定的相关性。

为明确河北省连续十几年种植 Bt 棉后棉田中棉铃虫的抗药性现状，本研究于 2011－2012 年对河北省保定南郊、沧州南皮、邢台巨鹿 3 个地区的棉铃虫种群进行了室内毒力测定及相关酶（CarE，GST 和 AChE）的活性分析，以便及时了解河北省 Bt 棉田棉铃虫对杀虫剂的敏感性变化及抗性机理，为农药的合理使用及抗性治理提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试虫来源及试虫饲养

2011－2012 年 6－9 月分别从河北保定南郊、沧州南皮和邢台巨鹿 Bt 棉田采集棉铃虫卵，带回室内（温度 26±1℃，相对湿度 65%～75%，光周期 14L∶10D）进行人工饲养（梁革梅等，1999）。选择第 1 代或第 2 代的 3 龄幼虫进行室内毒力测定。敏感品系由南京农业大学提供，饲养条件同上。

1.2　药剂与试剂

1.2.1　药剂：89.9%辛硫磷原油，90%马拉硫磷原油，95%毒死蜱原粉，98%灭多威原粉，90%氰戊菊酯原油，95.5%高效氯氰菊酯原油，97.1%高效氯氟氰菊酯原油，95%氯虫苯甲酰胺原粉，均由河北省农业厅农药检定所提供。

1.2.2　试剂：碘化硫代乙酰胆碱（ATChI）（化学纯，上海试剂一厂）；谷胱甘肽（L-GSH）（进口分装，上海金穗生物科技有限公司）；二硫对硝基苯甲酸（DTNB）（进口分装，Fluka）；十二烷基硫酸钠（SDS）（化学纯，上海化学试剂公司）；α-萘酚（α-naphthol）（分析纯，天津市天力化学试剂有限公司）；毒扁豆碱（eserine）（进口分装，Fluka）；考马斯亮蓝 G-250（进口分装，Sigma）；牛血清蛋白（BSA）（电泳纯，北京红兴化学试剂分装厂）；α-乙酸萘酯（α-NA）（化学纯，北京通县育才精细化工厂）；坚固蓝 B 盐（进口分装，Fluka）；1-氯-2,4-二硝基苯（CDNB）（化学纯，上海化学试剂公司）；乙二胺四乙酸（EDTA）（进口分装，Fluka）。

1.3　毒力测定

采用点滴法进行毒力测定：将原药溶解于丙酮并稀释成 5～7 个浓度梯度，用微量点滴器（容积为 0.110 μL）将药液点滴在试虫的前胸背板上。试虫为 8～12 mg 的 3 龄幼虫，避免使用刚蜕皮或快要蜕皮的幼虫。每个浓度处理 15～20 头，重复 3 次，以丙酮为对照。处理后室内饲养，48 h（氯虫苯甲酰胺处理 72 h）后检查死亡率，以锐器轻触虫体，无明显反应者为死亡。

1.4　酶活性测定

1.4.1　酶液制备：对敏感、3 个田间种群棉铃虫 3 龄幼虫各取 10 头，分别加入 5 mL 0.04 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液，匀浆，在 4℃、10 000 g 条件下离心 10 min，取上清液作为酶液。

1.4.2　羧酸酯酶（CarE）活性测定：参照 Van Asperen（1962）的方法，略有改动。以 α-乙酸萘酯为底物，反应体系为：0.04 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液 0.8 mL，3×10^{-4} mol/L 的底物 2.0 mL，酶液 0.2 mL，混匀，在 30℃水浴振荡 30 min，加入 1 mL 显色剂（1%坚固牢蓝 B 盐液与 5 % SDS 溶液 2∶5 混合，v/v），室温静置 30 min，在紫外分光光度计 600 nm 下测 OD 值。重复 3 次。根据 α-萘酚的生成量和酶源蛋白含量，计算 CarE 比活力。

1.4.3 乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的测定：参照陈巧云(1980)的方法，略有改动。取 0.2 mL 酶液，加入 2.7 mL 0.1 mol/L pH 7.4 磷酸缓冲液和 0.1 mL ATChI-DTNB(1∶2，v/v)，混匀，于 27℃水浴振荡条件下反应 15 min 后，加 0.5 mL 1×10^{-3} mol/L 毒扁豆碱中止反应，在紫外分光光度计 412 nm 下测 OD 值。重复 3 次。根据谷胱甘肽的生成量和酶源蛋白含量，计算 AChE 比活力。

1.4.4 谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)活性的测定：参照 Clark (1984) 的方法，以 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)为底物，反应体系为：0.066 mmol/L pH 7.0磷酸缓冲液(含 2 mol/L 乙二胺四乙酸)2.4 mL，50 mmol/L 还原型谷胱甘肽 0.3 mL，0.03 mol/L CDNB 0.1 mL，酶液 0.2 mL，混匀，反应温度为 27℃。以无酶反应液作对照，测定 340 nm 波长 OD 值变化，所有测定在 5 min 内呈线性。重复 3 次。根据 OD 值和酶源蛋白含量，计算 GSTs 比活力。

1.4.5 蛋白质含量测定：参照 Bradford(1976) 考马斯亮兰法测定。

1.5 数据统计与分析

采用 DPS 7.05 软件对实验数据进行处理和分析，计算 LD_{50}及毒力回归方程；采用单因素方差分析(ANOVA)中的 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 8 种杀虫剂对棉铃虫敏感品系的毒力

辛硫磷、马拉硫磷、毒死蜱、灭多威、高效氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、氰戊菊酯和氯虫苯甲酰胺 8 种杀虫剂对敏感品系的毒力基线见表 1。

表 1 8 种杀虫剂对棉铃虫敏感品系的毒力

Table 1 The toxicity of 8 insecticides to the susceptible population of *Helicoverpa armigera*

药剂 Insecticide	斜率 Slope (± *SE*)	LD_{50}(95% 置信限)(μg/头) LD_{50}(95% confidence limit)(μg/individual)
辛硫磷 Phoxim	2.8827 ± 0.5169	0.2748 (0.2006 – 0.4683)
马拉硫磷 Malathion	1.4714 ± 0.3155	0.9447 (0.6156 – 1.8282)
毒死蜱 Chlorpyrifos	1.9812 ± 0.3615	0.3806 (0.2402 – 0.5329)
灭多威 Methomyl	1.7817 ± 0.2813	0.0530 (0.0375 – 0.0796)
高效氯氰菊酯 Beta-cypermethrin	2.0524 ± 0.3331	0.0166 (0.0097 – 0.0234)
氰戊菊酯 Fenvalerate	1.3608 ± 0.3034	0.0261 (0.0168 – 0.0411)
高效氯氟氰菊酯 Lambda-cyhalothrin	1.6610 ± 0.3100	0.1075 (0.0624 – 0.1712)
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	1.8176 ± 0.3838	0.0006 (0.0003 – 0.0009)

2.2 河北省转 Bt 基因棉田棉铃虫抗药性

河北省保定南郊、沧州南皮、邢台巨鹿 3 个地区转 Bt 基因棉田棉铃虫种群对常用 8 种杀虫剂的抗性水平见表2，结果表明，3 个田间种群对有机磷类杀虫剂处于相对敏感水平，对辛硫磷、马拉硫磷和毒死蜱的抗性倍数分别为 2.61 ~ 2.69，1.03 ~ 2.30和 1.00 ~ 2.45 倍；对灭多威处于低至中抗性水平，抗性倍数为 6.27 ~ 11.84 倍；对高效氯氰菊酯和氰戊菊酯处于中至高抗性水平，抗性倍数分别为 20.02 ~ 60.10 和 27.31 ~ 73.70 倍，对高效氯氟氰菊酯处于敏感水平，抗性倍数为 1.07 ~ 4.20 倍；对氯虫苯甲酰胺处于敏感水平，抗性倍数为 2.00 ~ 3.67 倍。

2.3 棉铃虫田间及室内种群 CarE，GSTs 和 AChE 活性比较

河北省保定南郊、沧州南皮和邢台巨鹿 3 个地区 Bt 棉田棉铃虫种群和敏感种群的 CarE，GSTs 和 AChE 的活性见表 3。保定南郊和沧州南皮的棉铃虫种群的 CarE 的活性与敏感种群差异显著，而邢台巨鹿的棉铃虫种群的 CarE 的活性与敏感种群差异不显著，3 个田间种群的 CarE 活性分别是敏感种群的 1.23，1.14 和 1.06 倍；3 个田间种群的 GSTs 活性均与敏感种群差异显著，活性分别是敏感种群的 1.63，1.20 和 1.27 倍；3 个田间种群的 AChE 活性均与敏感种群差异显著，活性分别是敏感种群的 1.15，1.15 和 1.23 倍。

表 2　河北转 Bt 基因棉田棉铃虫对 8 种杀虫剂的抗性

Table 2　The resistences of *Helicoverpa armigera* from transgenic Bt cotton field to 8 insecticides in Hebei

药剂 Insecticide	种群来源 Population source	斜率 Slope (± *SE*)	LD_{50}(95%置信限)(μg/头) LD_{50}(95% F. L.)(μg/individual)	抗性倍数 R/S ratio	抗性水平 Resistance level
辛硫磷 Phoxim	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	0.9050 ± 0.3067	0.7166 (0.2082 – 2.0427)	2.61	S
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.5082 ± 0.3612	0.7285 (0.4483 – 1.3877)	2.65	S
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	2.6890 ± 0.5252	0.7387 (0.4663 – 1.0124)	2.69	S
马拉硫磷 Malathion	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.5945 ± 0.3015	2.1767 (1.4079 – 3.6143)	2.30	S
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.4303 ± 0.3551	1.0088 (0.5364 – 1.7011)	1.07	S
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	1.5732 ± 0.3663	0.9687 (0.5393 – 1.5526)	1.03	S
毒死蜱 Chlorpyrifos	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	2.1618 ± 0.4272	0.9315 (0.5930 – 1.3371)	2.45	S
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	2.5204 ± 0.4929	0.4326 (0.2874 – 0.5995)	1.14	S
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	2.1163 ± 0.4317	0.3802 (0.2633 – 0.6426)	1.00	S
灭多威 Methomyl	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.2307 ± 0.2148	0.3322 (0.2026 – 0.5824)	6.27	LR
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.2232 ± 0.2701	0.6277 (0.3233 – 1.0853)	11.84	MR
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	2.0380 ± 0.4202	0.4045 (0.2459 – 0.5903)	7.63	LR
高效氯氰菊酯 Beta-cypermethrin	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.3687 ± 0.2959	0.3379 (0.1370 – 0.5692)	20.36	MR
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	0.9618 ± 0.2084	0.6972 (0.3671 – 1.4697)	60.10	HR
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	1.7856 ± 0.3866	0.3323 (0.2187 – 0.5705)	20.02	MR
氰戊菊酯 Fenvalerate	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.8111 ± 0.3819	1.9236 (1.2770 – 3.5163)	73.70	HR
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.7328 ± 0.3758	1.2948 (0.8242 – 2.1017)	49.61	HR
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	1.3102 ± 0.2758	0.7128 (0.3991 – 1.2099)	27.31	MR
高效氯氟氰菊酯 Lambda-cyhalothrin	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.4421 ± 0.2871	0.4512 (0.2794 – 0.7788)	4.20	DS
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.2902 ± 0.3482	0.3462 (0.1984 – 0.7740)	3.22	DS
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	1.4227 ± 0.3532	0.1152 (0.0644 – 0.2008)	1.07	S
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	保定南郊 Southern suburbs of Baoding	1.7380 ± 0.3767	0.0012 (0.0007 – 0.0018)	2.00	S
	沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	1.5691 ± 0.3632	0.0022 (0.0012 – 0.0035)	3.67	DS
	邢台巨鹿 Julu, Xingtai	1.3243 ± 0.2808	0.0013 (0.0007 – 0.0021)	2.17	S

抗性倍数 = 田间种群 LD_{50}值/敏感种群 LD_{50}值。The R/S ratio = LD_{50} of field population/LD_{50} of susceptible population. S：相对敏感(抗性倍数 < 3.0) Relatively susceptible (the R/S ratio < 3.0)；DS：敏感性下降(抗性倍数：3.1 ~ 5.0) Reduced susceptibility (the R/S ratio：3.1 – 5.0)；LR：低水平抗性(抗性倍数：5.1 ~ 10.0) Low-level resistance (the R/S ratio：5.1 – 10.0)；MR：中等水平抗性(抗性倍数：10.1 ~ 40.0) Medium-level resistance (the R/S ratio：10.1 – 40.0)；HR：高水平抗性(抗性倍数 > 40.0) High-level resistance (the R/S ratio > 40.0).

表 3 河北棉铃虫敏感及田间种群 CarE，GSTs 和 AChE 的活性

Table 3 Activities of CarE, GSTs and AChE in the susceptible and field populations of *Helicoverpa armigera* in Hebei

种群来源 Population source	CarE 活性 CarE activity (μmol/mg pro · min)	R/S 比值 R/S ratio	GST 活性 GST activity (OD /mg pro · min)	R/S 比值 R/S ratio	AChE 活性 AChE activity (μmol/mg pro · min)	R/S 比值 R/S ratio
保定南郊 Southern suburbs of Baoding	0.842 ±0.218 a	1.23	1.314 ±0.058 a	1.63	0.015 ±0.001 a	1.15
沧州南皮 Nanpi, Cangzhou	0.781 ±0.153 b	1.14	0.965 ±0.028 b	1.20	0.015 ±0.000 a	1.15
邢台巨鹿 Julu, Xingtai	0.728 ±0.147 c	1.06	1.024 ±0.065 b	1.27	0.016 ±0.001 a	1.23
敏感 Susceptible	0.686 ±0.076 c	1.00	0.807 ±0.028 c	1.00	0.013 ±0.001 b	1.00

表中数据为平均值 ± *SE*，同一列数据后不同的字母表示在 5% 水平上具有显著性差异（Duncan 氏检验）。Data are mean ± *SE*, and those followed by different letters within the same column show significant difference at the 5% level by Duncan's test.

3 讨论

本研究测定的辛硫磷、灭多威和高效氯氟氰菊酯对河北省田间棉铃虫种群的 LD_{50} 值分别为 0.7166 ~ 0.7387，0.3322 ~ 0.6277 和 0.1152 ~ 0.4512 μg/头，而芮昌辉等（1999）测定辛硫磷、灭多威和高效氯氟氰菊酯对河北省棉铃虫的 LD_{50} 值分别为 0.9795 ~ 1.0833，0.3908 ~ 1.6768 和 0.0388 ~ 0.0534 μg/头，由此可知，河北省棉铃虫对辛硫磷和灭多威抗性呈缓慢下降趋势，而对高效氯氟氰菊酯却呈上升趋势，这与张帅和邵振润（2012）报道的河北省棉铃虫对辛硫磷和高效氯氟氰菊酯抗性变化一致。随着河北省 Bt 棉的广泛种植，大大降低了化学杀虫剂在棉田中的使用频率，Pray 等（2001）报道，在我国北方种植 Bt 棉后，棉田中杀虫剂的使用次数由 12 次以上降至 3 ~ 4 次，药剂选择压降低导致棉铃虫对有机磷类杀虫剂和灭多威的抗性呈不同程度的下降趋势。而棉铃虫对拟除虫菊酯类杀虫剂抗性呈上升趋势，其原因可能是：第一，在 Bt 棉种植前，河北省棉铃虫对拟除虫菊酯类杀虫剂处于高抗水平（潘文亮等，1997；芮昌辉等，1999；吴孔明和郭予元，2000）；第二，在广泛种植 Bt 棉后，虽然有效地控制了棉铃虫的危害，但棉蚜、棉盲蝽和棉叶螨等刺吸类害虫逐渐变为主要害虫，在田间防治此类刺吸式害虫时仍以拟除虫菊酯类药剂为主；第三，棉铃虫寄主范围很广，可危害 20 多科 200 余种寄主，除棉花外，主要危害玉米、花生和大豆等作物，在使用药剂防治该类作物主要害虫时兼防了棉铃虫，其中拟除虫菊酯类药剂用药量较大。近五年来，氯虫苯甲酰胺是我国在棉田推广应用的一种新型药剂，本研究表明河北省棉铃虫对氯虫苯甲酰胺处于相对敏感及敏感性下降水平。因此，今后在河北省棉花和玉米等作物害虫防治时，有机磷、灭多威和氯虫苯甲酰胺农药在各地区仍可作为主要备选药剂使用，拟除虫菊酯类药剂应尽量少用。

昆虫抗药性机制大致也可分为代谢抗性、靶标抗性和行为抗性，其中以前 2 种为主要机制。本研究结果表明，对高效氯氰菊酯和氰戊菊酯抗性达 20.02 ~ 73.70 倍的棉铃虫种群，其体内的 CarE 和 GSTs 活性分别提高到 1.06 ~ 1.23 和 1.20 ~ 1.63 倍；对灭多威抗性为 6.27 ~ 11.84 倍的种群，其体内的 AChE 活性提高到 1.15 ~ 1.23 倍。这与其他学者的研究结果一致。据报道，张友军等（1997）报道棉铃虫对氰戊菊酯的抗性达 14.13 倍，其体内 CarE 和 GSTs 的活力提高到 1.9 和 1.43 倍；对灭多威的抗性为 5.79 倍，其体内 AchE 的活力提高到 1.44 倍。刘波等（2003）报道用灭多威可以诱导棉铃虫体内 AChE 活性的增强。杨亦桦等（2008）报道在室内选育的抗辛硫磷/氯氟氰菊酯棉铃虫品系中，CarE 活性增加是其产生抗性的主要原因。据梁革梅等（2001）报道，抗 Bt 棉棉铃虫体内的 CarE 和 AChE 活性显著增加。可见，河北 Bt 棉棉田棉铃虫对灭多威和拟除虫菊酯类杀虫剂抗性的产生与其体内 CarE，GSTs 和 AChE 活性的增加有一定相关性，但是不是主要原因有待进一步研究。

田间长期大量的使用化学药剂会导致害虫产生

抗药性。从生物学角度来看，昆虫对杀虫剂产生抗药性是一种胁迫进化现象，它伴随着杀虫剂对昆虫的选择作用而出现，当药剂的选择压消失或减小时，昆虫对应的抗药性也会下降，昆虫抗药性的产生伴随着体内生理生化机能发生相应的改变。只有通过抗性测定才能了解害虫群体的抗性水平，在抗性治理实施过程中，可以根据监测害虫抗性水平和抗性机理为抗性治理方案的修订补充提供依据。

参考文献（References）

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 –254.

Chen QY, Jiang JL, Lin GF, Liu WD, 1980. Studies on the resistance of dipterex-resistant mosquito *Culex pipiens pallens* Coq – on the relationship between hydrolase and resistance. *Acta Entomologica Sinica*, 23(4): 259 –365.［陈巧云，姜家良，林国芳，刘维德，1980. 淡色库蚊对敌百虫抗性的研究——水解酶同敌百虫抗性关系. 昆虫学报，23(4)：259 –365］

Clark AG, Dick GL, Smith JN, 1984. Kinetic studies on a glutathione S-transferase from the larvae of *Costelytra zealandica*. *Biochemical Joural*, 217: 51 –58.

Guo QL, 2007. Resistance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) Populations to Four Pesticides and Effect of Transgenic Bt Cotton on the Resistance. MSc Thesis, Shandong Agricultural University, Jinan.［郭庆龙，2007. 棉铃虫对 4 种杀虫剂的抗性现状及 Bt 棉对棉铃虫抗药性的影响. 济南：山东农业大学硕士学位论文］

Liang GM, Tan WJ, Guo YY, 1999. Improvement of artificial rearing technology of *Helicoverpa armigera*. *Plant Protection*, (2): 15 –17.［梁革梅，谭维嘉，郭予元，1999. 人工饲养棉铃虫技术的改进. 植物保护，(2)：15 –17］

Liang GM, Tan WJ, Guo YY, 2001. Comparison of some detoxification enzyme and midgut protease activities between resistant and susceptible cotton bollworm population to Bt. *Acta Phytophylacica Sinica*, 28(2): 133 –138.［梁革梅，谭维嘉，郭予元，2001. 棉铃虫 Bt 抗感种群间数种解毒酶和中肠蛋白酶活性的比较. 植物保护学报，28(2)：133 –138］

Liu B, Gao XW, Zheng BZ, 2003. Effects of sublethal doses of anticholinesterase agents on toxicity of insecticides and their induction to acetylcholinesterase (AChE) activity in *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomologica Sinica*, 46 (6): 691 –696.［刘波，高希武，郑炳宗，2003. 抗胆碱酯酶剂亚致死剂量对棉铃虫毒力的影响及对乙酰胆碱酯酶的诱导作用. 昆虫学报，46 (6)：691 –696］

Liu SJ, 2003. Preliminary analysis of cotton production and breeding in Hebei province. *China Cotton*, (5): 44 –45.［刘素娟，2003. 浅析河北省棉花生产及育种情况. 中国棉花，(5)：44 –45］

Pan WL, Gao ZL, Zhang KJ, He Y, 1997. Developing trend of insecticide-resistance of cotton bollworm in Hebei Province. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 10(20): 25 –29.［潘文亮，高占林，张克锦，何仪，1997. 河北省主要棉区棉铃虫对杀虫剂抗性的发展趋势. 河北农业大学学报，10(20)：25 –29］

Pray C, Ma D, Huang J, Qiao F, 2001. Impact of Bt cotton in China. *World Development*, 29(5): 813 –825

Qin QJ, 2002. Population Dynamics and Insecticide Resistance of Cotton Bollworm on Transgenic Bt cotton. MSc Thesis, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei.［秦秋菊，2002. 转 Bt 基因棉棉铃虫的发生及抗药性变化. 河北保定：河北农业大学硕士学位论文］

Rui CH, Meng XQ, Fan XL, Liang GM, Li YP, 1999. Resistance to insecticides in *Helicoverpa armigera* in Hebei, Henan, Shandong and Xinjiang. *Acta Phytophylacica Sinica*, 26(3): 260 –264.［芮昌辉，孟香清，范贤林，梁桂梅，李永平，1999. 冀鲁豫和新疆棉铃虫的抗药性. 植物保护学报，26(3)：260 –264］

Van Asperen K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8: 401 –416

Wu KM, Guo YY, 2000. The coordinated development and analysis of contributing factors of cotton bollworm resistance to insecticides in round-Bohai bay-region. *Acta Phytophylacica Sinica*, 27 (2): 173 –178.［吴孔明，郭予元，2000. 环渤海湾地区棉铃虫的抗药性水平及成因分析. 植物保护学报，27(2)：173 –178］

Yang BX, 2004. Study on the Present Situation and the Countermeasures of the Spreading and Application of Bt Cotton. MSc Thesis, China Agricultural University, Beijing.［杨宝新，2004. 抗虫棉推广与应用的现状及对策研究. 北京：中国农业大学硕士学位论文］

Yang YH, Chen S, Wu YD, 2008. Cross resistance patterns and biochemical mechanisms in a Chinese *Helicoverpa armigera* strain selected with an organophosphate/pyrethroid mixture. *Cotton Science*, 20(4): 249 –255

Zhang PL, Ma GC, Zhao BQ, 2004. Study on the resistant changes of methomyl in *Helicoverpa armigera* in Xinxiang. *China Cotton*, 31 (6): 12 –13.［张平磊，马光春，赵保勤，2004. 新乡棉铃虫对灭多威抗药性变化规律研究. 中国棉花，31(6)：12 –13］

Zhang S, Shao ZR, 2012. Investigation on resistance of harmful organisms and scientific control in China in 2011. *China Plant Protection*, 32(3): 42 –45.［张帅，邵振润，2012. 2011 年全国农业有害生物抗药性监测结果及科学用药建议. 中国植保导刊，32(3)：42 –45］

Zhang WJ, Zhang YJ, Han XL, 1996. Studies on the carboxylerase gluthione S-transferase and acetylcholinestesterase in different ages of *Helicoverpa armigera* larva. *Acta Phytophylacica Sinica*, 23 (2): 157 –162.［张文吉，张友军，韩熹莱，1996. 棉铃虫不同龄期幼虫羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶、乙酰胆碱酯酶研究. 植物保护学报，23(2)：157 –162］

Zhang YJ, Zhang WJ, Han XL, Li XF, 1997. Biochemical and physiological mechanisms of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 40 (3): 247 –253.［张友军，张文吉，韩熹莱，李学锋，1997. 棉铃虫抗药性的生理生化机制研究. 昆虫学报，40(3)：247 –253］

（责任编辑：赵利辉）